用ELISA研究稻田节肢类捕食者对稻飞虱的捕食作用*

张古忍 张文庆 古德祥
(中山大学昆虫学研究所 广州 510275)

摘要 应用酶联免疫吸附试验(ELISA)来研究捕食作用能较准确地评价捕食性天敌对害虫的控制作用。ELISA检测表明,不同种类的捕食性天敌对稻飞虱的捕食作用有较大差别,其中以优势种食虫沟瘤蛛和拟水狼蛛的捕食作用最大,阳性反应率与稻飞虱的种群密度有一定的相关关系,但在稻飞虱密度较低的情况下也表现出较高的阳性反应率。

关键词 酶联免疫吸附试验,节肢类捕食者,稻飞虱

捕食性天敌在害虫生物防治中具有极其重要的作用,因此,捕食者和猎物之间的相互关系问题一直是生态学研究的中心课题之一。昆虫学家们采用了许多不同的方法来研究这种关系,希望能正确评价天敌对害虫的控制作用。自然,稻田节肢类捕食性天敌也不例外,实践表明,它们在控制稻田害虫的大发生方面具有重要作用。到目前为止,要准确地评价这种作用尚存在许多困难。血清学方法是诸多方法中较理想的一种,其理论依据在于天敌消化道内存在可与抗体反应的猎物蛋白。因此,能获得捕食作用的直接证据。而酶联免疫吸附试验(ELISA)又是近二十年来发展起来的具有高灵敏度和强特异性的血清学方法之一,它将抗原、抗体的免疫反应和酶的高效催化有机地结合起来,大大提高了测试的敏感性,且操作简便,检测迅速。国外已有一些这方面的工作[1~6],国内尚不多见[7]。在应用ELISA检测稻飞虱捕食性天敌的基础上,本文定性研究了稻田节肢类捕食性天敌对稻飞虱(白背飞虱 *Sogatella furcifera* 和褐飞虱 *Nilaparvata lugens*)的捕食作用。

1 材料与方法

1.1 稻飞虱的养殖

将从田间采回的稻飞虱接入装有秧苗的养虫笼中饲养,待成虫羽化后,分离褐飞虱和白背飞虱,并分别接入养虫笼中,进行隔离饲养,然后逐步收集稻飞虱的成虫和若虫。收集到的稻飞虱虫体在室温下供水饥饿24 h后移入-20 ℃冰箱中保存。

1.2 抗原的提取

将冰箱中保存的稻飞虱取出后称重,倒入匀浆管中,并加入适量的磷酸缓冲液

* 国家自然科学基金和广东省自然科学基金资助课题
1995-09-25收稿,1996-01-18收修改稿

(0.05mol/L，pH7.4)。在匀浆液中加入过量的磷酸缓冲液，在4℃下搅拌24 h，然后离心（4 000 r/min～5 000 r/min，20 min），分离上清液。沉渣重复抽提一次。将两次所得的上清液混合后，置于4℃下更换多次冷盐水透析24 h和48 h。透析液用冰冻干燥法进行浓缩，浓缩液再在4℃下透析24 h，用紫外分光光度计测定透析液的蛋白质含量，即为抗原。

1.3 抗血清的制备

从市场上买回的健康雄性新西兰大白兔编号饲养15 d～20 d。然后采用耳缘静脉注射法，用适当浓度（5 mg/mL～10 mg/mL）的抗原进行免疫。第三次注射后2 d～3 d采少量血测效价，当用试管沉淀法测效价达到1∶29时，即可放血；否则，继续免疫。收集到的血液成斜面放置在37℃温箱或室温下2 h,然后置于4℃冰箱过夜。次日用滴管吸取抗血清，用离心法（3 500 r/min，20 min）去掉沉淀物，即得抗血清，然后测效价。

1.4 酶联抗体的制备及ELISA检测

酶联抗体的制备采用戊二醛简易法进行，先将辣根过氧化物酶与戊二醛交联后，再与抗体蛋白的氨基结合成为酶联抗体。ELISA检测采用双抗体法[8]，以PBS-Tween作空白对照，饥饿48 h以上的其它各种害虫和饥饿15 d的各种天敌为阴性对照，喂饲过稻飞虱的同种天敌提取液为阳性对照。以0.60为ELISA之光吸收值（OD）的临界值，即大于或等于0.6为阳性，小于0.6为阴性。

1.5 捕食者的收集

每次野外调查中，从保护区内采集捕食性天敌，分装入小试管中，再放入保温瓶内冷冻保存。带回实验室后迅速移入-20℃冰箱中低温保存，待检。每头天敌同时检测两种稻飞虱的捕食情况。

2 结果与分析

2.1 不同捕食者种阳性反应率的比较

不同捕食者种对白背飞虱和褐飞虱的捕食作用是不同的。表1列出了对1993年野外调查期间所采集的捕食性天敌所做的ELISA检测的阳性反应率，从中可以看出，食虫沟瘤蛛、拟水狼蛛、管巢蛛的阳性率最高，拟环纹豹蛛次之，这与它们的生态位关系密切相关[9]，与稻飞虱时-空生态位关系不一致的捕食性天敌对稻飞虱的捕食作用是有限的；然而，与稻飞虱时-空生态位关系相一致的捕食性天敌对稻飞虱的捕食作用也有一定的限度。表2分别为早稻群落早期优势种食虫沟瘤蛛 *Ummeliata insecticeps* 和中后期优势种拟水狼蛛 *Pirata subpiraticus* 在不同时间的阳性率，晚稻群落中因单种检测虫数太少而未列出。据此可以知道，以茎秆层为主要活动场所的食虫沟瘤蛛、拟水狼蛛、拟环纹豹蛛、跳蛛、隐翅虫、步甲和管巢蛛的阳性率明显高于主要活动于叶面的肖蛸、园蛛、猫蛛和稻红瓢虫等。同时，还可以知道，早稻群落中的阳性率明显高于晚稻。这是因为早稻群落

中稻飞虱的种群密度远高于晚稻群落。早稻群落中捕食性天敌所能捕获的稻飞虱远多于晚稻群落，晚稻群落中天敌用于搜索猎物所花费的时间远多于早稻群落，此种群落中的捕食性天敌多处于半饥饿状态。

表 1　不同捕食者的阳性反应率　　（1993 年，大沙）

	早稻检测虫数（头）	早稻阳性率（%）		晚稻检测虫数（头）	晚稻阳性率（%）	
		白背飞虱	褐飞虱		白背飞虱	褐飞虱
食虫沟瘤蛛	57	47.37	49.12	11	27.27	36.36
拟水狼蛛	48	45.83	66.67	23	30.47	17.39
拟环纹豹蛛	13	23.08	30.77	8	37.5	25
跳蛛	5	60	20	9	22.22	22.22
肖蛸	29	10.34	20.69	6	0	0
园蛛	9	44.44	22.22	12	0	8.33
猫蛛	9	22.22	22.22	7	0	0
管巢蛛	7	57.14	42.86	6	16.67	0
隐翅虫	9	22.22	22.22	5	40	40
步甲	7	28.57	28.57	4	50	50
稻红瓢虫	21	19.05	9.52	3	0	0

表 2　食虫沟瘤蛛和拟水狼蛛的阳性反应率　　（1993 年）

时间（月．日）	食虫沟瘤蛛数（头）	阳性率（%）		拟水狼蛛数（头）	阳性率（%）	
		白背飞虱	褐飞虱		白背飞虱	褐飞虱
5.8	6	33.33	0	—	—	—
5.18	6	33.33	16.67	3	66.67	33.33
5.28	11	63.64	63.64	—	—	—
6.3	8	62.5	50	7	57.14	42.86
6.8	5	60	40	4	100	25
6.13	10	60	60	11	81.82	81.82
6.20	7	14.29	85.71	7	0	100
7.1	4	25	50	14	7.14	71.43

2.2　稻飞虱密度与阳性反应率间的关系

节肢类捕食性天敌总的阳性反应率随着稻飞虱密度的增加而有所增加（表 3，表 4），二者之间有一定的相关关系。相关分析表明，早稻群落中对白背飞虱和褐飞虱阳性反应率与其密度之间相关系数分别为 0.3067 和 0.2552，总相关系数为 0.6932；晚稻群落中则分别为 0.3445 和 0.6026，总相关系数为 0.5125。虽然稻飞虱的密度是白背飞虱和褐飞虱的总和，二者之间有一定的比例，进行回归分析后得出的结论有一定的差异，但基本上还是能说明问题。白背飞虱发生较早，4 月进田，6 月中迁出（较早），水稻生长后期

表 3　1993 年早稻稻飞虱密度与阳性反应率*

日期(月．日)	5.8		5.18		5.28		6.3		6.8		6.13		6.20		7.1	
稻飞虱**	WPH	BPH	WPH	BPH	WPH	BPH	WPH	BPH	WPH	BPH	WPH	BPH	WPH	BPH	WPH	BPH
	0		4.8		27		17.2		102.4		84.7		40.4		38.9	
阳性率(%)	21.05	0	33.33	14.29	43.33	43.33	54.29	31.4	52.17	21.74	42.22	44.44	4.76	80.95	11.11	59.26

*　WPH(白背飞虱),BPH(褐飞虱);
**每 10 丛平均数

表 4　1993 年晚稻稻飞虱密度与阳性反应率*

日期(月．日)	8.14		8.24		9.4		9.14		9.28		10.5		10.5	
稻飞虱**	WPH	BPH	WPH	BPH	WPH	BPH	WPH	BPH	WPH	BPH	WPH	BPH	WPH	BPH
	0		0		0		1.4		8.7		6.3		1.6	
阳性率(%)	9.52	4.76	5.55	22.22	9.52	0	60	20	42.86	28.57	27.27	45.45	60	40

*　WPH(白背飞虱),BPH(褐飞虱);
**每 10 丛平均数

数量较低，阳性反应也较低，褐飞虱迁入较晚，二者数量上相互补充。从计算所得的相关系数可以看出，稻飞虱密度与阳性反应率之间没有达到显著相关的水平。必须指出的是，因为尚缺乏足够的资料来计算单种天敌与稻飞虱之间的相关性，所以这里计算的阳性反应率是一个综合的结果。

相反，在稻飞虱密度很低甚至查不出来的情况下，捕食性天敌也表现出较高的阳性反应率，说明了捕食性天敌对稻飞虱的主动搜索性。这对于控制早期迁入稻飞虱的大发生有重要的作用。

3　小结与讨论

不同种类的节肢类捕食性天敌对稻飞虱的捕食作用有明显的差异。在所有种类中，时-空生态位与稻飞虱相似的具有较高的阳性反应率，在这些种类中，尤以早稻群落早期的优势种食虫沟瘤蛛和是后期优势种拟水狼蛛的阳性率最高。由于二者在群落中的优势地位，它们在对稻飞虱的捕食作用中显然占有主导地位。从总的阳性反应率来看，阳性率随稻飞虱种群密度的增加而有所增加，但二者之间并无显著的相关关系。因为总的阳性率是一个综合的结果，受很多因素如不同种类的生态位关系等的影响。但在稻飞虱密度很低甚至查不到的情况下，捕食性天敌仍表现出较高的阳性率，说明了捕食性天敌的主动觅食性，同时也反映了捕食性天敌在群落重建时对抑制刚迁入稻飞虱的大发生的作用，这种作用能推迟稻飞虱发生高峰的出现。

尽管 ELISA 方法本身很敏感，但血清学检测的质量首先还要依赖于高效价、特异性强的抗血清，因此，制备高效价特异性强的抗血清成为 ELISA 方法成功的关键所在，抗血清的制备受到许多因素如抗原的提取、免疫方法等的影响。同时，ELISA 研究结果与影响取食和消化的因子有关，如消化速率、取食频率、田间取样频率及环境因子如温度等的影响在不同种类的天敌中表现不一样。

在捕食作用研究中，ELISA 是一种很有发展前景的方法，但根据这种方法要对捕食作用进行准确评价还存在许多困难。在下一步的研究中，除进一步完善 ELISA 方法本身外，环境因子如温度等对消化速率的影响以及怎样将田间调查资料与阳性率有机地结合起来等都是值得研究的问题。尽管如此，其测定结果至少可以提供关于捕食者的捕食范围及不同捕食者的相对捕食效果和捕食者对猎物的嗜好程度。

参　考　文　献

1 Crook N E, Sunderland K D. Detection of aphid remains in predatory insects and spiders by ELISA. Ann. Appl. Biol. 1984, **105**: 413～422

2 Loevei G L, Sopp P I, Sunderland K D. Digestion rate in relation to alternative feeding in three species of polyhagous predators. Ecol. Entomol. 1990, **15**: 293～300

3 Miller, M C. Evaluation of Enzyme-Linked Immunosorbent Assay of narrow-and broad-spectrum anti-adult southern pine beetle serum. Ann. Entomol. Soc. Am. 1981, **74**: 279～282

4 Sopp P I, Sunderland K D, Fenlon J S *et al*. An improved quantitative method for estimating invertebrate predation in

the field using an ELISA. J. Appl. Ecol. 1992, **29**: 295～302

5 Sunderland K D, Chambers R J. Invertebrate polyphagous predators as pest control agents: Some criteria and methods. EC Experts' Meeting/Portici, 1982

6 Sunderland K D, Crook N E, Stacey D L *et al.* A study of feeding by polyphagous predators on cereal aphids using ELISA and gut dissection. J. Appl. Ecol. 1987, **24**: 907～933

7 黄 葵，郭予元，谢云陆．应用酶联免疫吸附试验（ELISA）鉴定粘虫的捕食性天敌．植物保护学报，1992，**19**（3）：207～212

8 朱培坤．免疫酶技术．济南：山东科技出版社，1983，109～125

9 张文庆、张古忍、古德祥．稻飞虱及其节肢类捕食者的生态位关系研究．中山大学学报论丛，1995，(2)：21～26

APPLICATION OF ELISA METHOD FOR DETERMINING CONTROL EFFECTS OF PREDATORY ARTHROPODS ON RICE PLANTHOPPERS IN RICE FIELD

Zhang Guren Zhang Wenqing Gu Dexiang

(*Institute of Entomology and Key State Laboratory for Biological Control, Zhongshan University Guangzhou* 510275)

Abstract Results of enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) showed that there were significant differences among the predatory effects of different predatory arthropods on whitebacked rice planthopper *Sogatella furcifera* (Horvath) and brown planthopper *Nilaparvata lugens* Stål in rice field. In these results, the predation effects of predominant spiders *Ummeliata insecticeps* (Boes. *et* Str.) and *Pirata subpiraticus* Boes. et Str., werr the best, their positive reaction rates were closely correlated with the population density of the planthoppers, and high positive reaction rates occurred even under low rice planthopper density.

Key Words ELISA, predatory arthropods, rice planthoppers